

氏 名 翁 経緯

授与した学位 博士

専攻分野の名称 薬学

学位記授与番号 博甲第3738号

学位授与の日付 平成20年9月30日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者
(学位規則第5条第1項該当)

学位論文の題目 Nucleotide incorporation against 7,8-dihydro-8-oxoguanine is influenced by neighboring base sequences in TLS DNA polymerase reaction
(7,8-Dihydro-8-oxoguanine 残基の乗り越え複製における隣接塩基配列の影響に関する研究)

論文審査委員 准教授 根岸 友恵 准教授 有元 佐賀恵 教授 綿矢 有佑 准教授 中尾 浩史

学位論文内容の要旨

生体内で、活性酸素種(ROS)は、DNA を攻撃し、発癌や老化に重要な役割を果たすと考えられている DNA 傷害を誘導する。損傷乗り越え合成 (Translesion synthesis, TLS) は、細胞が DNA の損傷を乗り越えて複製を行なう主要な経路であり、error-free もしくは error-prone の形をとる本研究では損傷乗り越え複製を行う酵素の一種である polη に注目し、酸化 DNA 損傷 7,8-dihydro-8-oxoguanine(8-oxoG)の乗り越え複製における特性について解析した。

DNA 損傷は複製時乗り越えによって、乗り越えられることが知られているが、損傷によって乗り越えの効率が違うと言われている。しかし、polη については乗り越え特性と塩基配列の関連性は明らかにされていないので、本研究では、以下の実験方法を用いて、複製の際、8-oxoG の 5'側隣接塩基が polη の乗り越える忠実性にどのような影響を与えるかを解析することを目的に研究を行った。

1. KF exo⁻, 酵母 polη 及びヒト polη を用いた primer-extension 実験を行い、各 oligomer による、酵素の 8-oxoG への塩基挿入選択率を調べた。更に、三つの酵素について、各 oligomer の 8-oxoG の変異率との関与を解析するため、正しい塩基と誤った塩基を挿入する比率を計算した。
2. 8-oxoG を乗り越える時、欠失変異が誘導される可能性を考え、full-length extension 実験を行った。
3. Polη による塩基挿入反応を速度論的に解析し、特性を明確に評価するための実験を行った。

本研究の結果により、8-oxoG の 5'側隣接塩基は polη の乗り越え効率に影響を及ぼし酵素によって変異スペクトルも異なることが分かった。また酵母 polη よりヒト polη の方が影響が顕著であった。

論文審査結果の要旨

DNA上の酸化損傷である7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG) の乗り越え複製に関する論文について審査を行った。

論文内容は、8-oxoGを一カ所含むオリゴマーを鋳型に用いて、primer-extension実験を行い、8-oxoGの相手にどのような塩基が取り込まれるかを調べたものである。その結果、用いた鋳型の損傷部位8-oxoGの5'側の塩基の違いが、8-oxoGの相手側に取り込まれる塩基の種類と効率に影響することを明らかにした。また、8-oxoGの5'側の塩基の違いは損傷乗り越え反応に使用した酵素の取り込み効率にも影響することを示した。

審査の経緯は、8-oxoGの損傷乗り越えに関する隣接塩基の影響を調べた研究は本研究が初めてであり、関連する研究領域への貢献度があると認められた。議論が不十分とされた点については修正し、全体としては学位論文として評価できるとされた。